

# 高等植物の細胞壁形成におけるホウ素の役割に関する研究

著者	井理 正彦
号	187
発行年	1976
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/16935">http://hdl.handle.net/10097/16935</a>

氏 名 (本籍)	い 井            り 理            ま さ            ひ と 正            彦
学 位 の 種 類	農            学            博            士
学 位 記 番 号	農 博 第        1 8 7        号
学位授与年月日	昭和 5 1 年 1 0 月 1 4 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 農芸化学専攻
学 位 論 文 題 目	高等植物の細胞壁形成における ハウ素の役割に関する研究

論文審査委員 (主 査)

教授 大 平 幸 次            教授 松 田 和 雄

教授 尾 田 義 治

# 論文内容要旨

## 序

高等植物の生育にとってホウ素が必須微量元素のひとつであることを発見したのは、1923年、Warington がソラマメを用いた研究に始まる。それ以後、種々の高等植物でホウ素欠乏症状が認められ、これより共通して生長点、形成層、分裂組織その他種々の新生組織に現われることから極めて特徴的であることが知られている。

過去、ホウ素は植物体内の種々の代謝、例えば炭水化物および窒素代謝、水分代謝、核酸代謝、酵素作用との関係、ホルモンとの関係、子実の稔実との関係等多くの生理作用に影響を及ぼすことが数多く報告されている。

1945年、Winfield が植物体内でのホウ素の存在形態について考察を行い、ホウ素と poly-hydroxyl 化合物との complex 形成説を出して以来、ホウ素の生理作用が糖の転流さらには細胞壁合成等に関与していることの推論がなされている。がこのような complex については未だに植物体から分離同定されていない。これらより植物体内でのホウ素の生理作用機構はかなり複雑であると考えられる。

近年ホウ素欠除短時間処理で根端伸長に抑制作用の起こることが明らかとなった。それ以来、ホウ素の生理作用解明のために従来の個体植物にかわって根端の伸長を対象としての研究が盛んに行われて来ている。しかしながら現在なおホウ素の植物体内での本質的な生理作用についてはほとんど解明されていない。

従来、生物間におけるホウ素の要求性の相違から cellulosic な細胞壁を持った植物にホウ素の必須性が一般に認められていること、また体内でのホウ素の挙動がカルシウムのそれと極めて類似していること、さらにはホウ酸イオンと糖との complex 形成説等より考えて、ホウ素の生理作用のひとつが細胞壁と何らかの関係のあることが推察された。

本研究では、photoautotroph で生育する個体植物、heterotroph で生育する液体振盪培養細胞等を用いてホウ素と細胞壁との関係を追求し合わせて栄養生理的な面からも検討を行いいくつかの新知見を得た。

## 1. ハツカ大根および水稻の生育におよぼすホウ素の影響ならびに

### 形態観察

ハツカ大根（コメット），水稻（農林 16 号）を用いホウ素供給量として 3 区（0.0, 0.5, 3.0 または 5.0ppm）を設けて水耕栽培を行い，欠乏・過剰症状の確認，形態観察，生育量，体内ホウ素含有量の変化，さらには細胞壁へおよぼす影響を検討した。

その結果，ハツカ大根でホウ素欠除により葉身，葉柄に彎曲，ねじれが生じてのち生長点が崩壊し，過剰区では下位葉の周縁部にネクロシスが認められたことより，ハツカ大根のような双子葉植物の方が単子葉植物である水稻よりもホウ素欠乏・過剰に敏感であることがまず栽培実験より確認された。続いて体内のホウ素の分布を検討するためハツカ大根について各葉位毎のホウ素含有率をみたところ，ホウ素は下位葉に集積することが明らかとなり，また難移動性であることが推察された（Fig. 1）。したがって古い組織からのホウ素の移動がなされない結果，新生組織に欠乏症状が起こったものと考えられた。さらに細胞壁中のホウ素含有率を検討したところ，ホウ素は常に細胞壁中に存在し，これがホウ素欠除になると特に地上部では組織中に含まれるホウ素の大部分が細胞壁中に存在することが明らかとなった。（Tab. 1）。これらの結果より，体内でのホウ素の挙動はカルシウムのそれと極めて似ておりホウ素の細胞壁への必要性が示唆された。

特徴的な欠乏症状を呈したハツカ大根について形態観察を行ったところ，地上部，地下部いずれにおいても特に形成層を含んだ維管束系の組織に崩壊が認められ，これがホウ素欠除により起こる物質の転流阻害につながるものと考えられた。さらに葉肉組織について細胞内部の構造変化を電子顕微鏡で観察したところ，ホウ素欠除により細胞壁に激しい鋸歯状構造さらには肥厚が認められ（Fig. 2），これが細胞壁含有量の増加とほぼ一致した結果を示した。また細胞壁構成成分の量変化を検討したところ，ホウ素欠除によって特にヘミセロース画分に変化が認められた。これらの結果より，ホウ素欠除によって本来持っている性質とは違った性質の細胞壁になっていることが明らかとなり，ホウ素と細胞壁との関係が強く示唆された。

## 2. トマト・緑豆幼植物の根端の伸長およびその形態におよぼす

### ホウ素の影響

1.の結果より，ホウ素欠除 2～3 週間後のハツカ大根で検討されたホウ素と細胞壁との関係が，ホウ素欠除後短時間でみられる伸長抑制の起こっている根端においても同様に認められるかを，トマト，緑豆の幼植物を用いて検討した。

始めにトマト幼植物を用い主な必須元素について欠除栽培後 48 時間までの根端伸長におよぼす影響を検討したところ、細胞壁の構造維持、形成に関与していると考えられるハウ素とカルシウムで欠除による抑制の度合の大きいことがわかり (Fig. 3), さらに細胞の伸長よりも分裂でより大きく抑制をうけていることがわかった。

次に緑豆幼植物を用いてハウ素欠除後 48 時間目の根端について形態観察を行ったところ、中心柱の細胞や未分化の若い根端細胞で、細胞壁形成過程に関与すると考えられているゴルジ体、ゴルジ小胞、小胞体等の数が異常に増加していることが認められ、同時に細胞壁は彎曲していた (Fig. 4)。これらの結果、ハウ素欠除後短時間の根端伸長に抑制が起きている段階ですでに細胞壁構造およびその形成に変化の生じていることが明らかとなった。そこで細胞壁の合成能を検討するために切離根を用いて glucose - U -  $^{14}$ C の取り込み実験を行ったが、分析に十分なサンプル量が得られず満足いく結果を得ることが出来なかった。

### 3. 液体振盪培養細胞の生育、形態、細胞壁合成能におよぼすハウ素の影響

上述結果より実験材料としてこの目的に合致した液体振盪培養細胞を用いて、まず始めに従来までの photoautotroph な個体植物について認められて来たハウ素の要求性が果して heterotroph な培養細胞でも認められるのか否かを検討し、のち栄養生理的な面と合わせて細胞壁との関係について検討した。

大豆、タバコ、水稻 3 種の培養細胞でハウ素欠除における生育への影響をみた結果、脱分化した細胞レベルでも明らかにハウ素の要求性のあることが確認された (Tab. 2)。このことは、ハウ素の生理作用が植物体内での糖の転流等の組織間での作用の他に、個々の細胞の生理代謝にも関与していることを示している。

次に大豆培養細胞を用いて形態観察を行ったところ、ハウ素欠除後 5～6 日目 (1 代目) に決まって細胞の褐変が生じて細胞の集団化の程度が大きくなり、ハツカ大根葉肉細胞や緑豆根端の細胞で観察されたのと同様に細胞壁の構造変化ならびにゴルジ体の増加が認められた。

そこで同様にハウ素欠除大豆培養細胞を用いて主な物質代謝の変化を検討したところ、細胞褐変の生ずる以前に、主に炭水化物 (熱 0.7N 塩酸 2.5 時間抽出糖, 80% エタノール可溶性糖) 含量および RNA 含量で対照区に比べて若干の低下が認められた。また個体植物の場合認められたのと同様にハウ素欠除培養細胞でも大部分のハウ素が細胞壁に存在することがわかりハウ素の細胞壁への必要性が示唆された。そこで細胞壁の合成能を検討するため glucose - U -  $^{14}$ C の取り込み実験を行った。大豆培養細胞についてハウ素欠除後 2, 4, 7 日目それぞれの細胞に

について検討したところ、いずれの細胞でも細胞壁画分への取り込み速度(cpm/mg新鮮重/時間)(Fig. 5)および割合(細胞壁中の cpm/細胞中の全 cpm)<sup>(Fig. 6)</sup>で対照区に比べて30～40%低下していることがわかり、さらに細胞壁構成成分(ペクチン物質画分、ヘミセルロース画分、セルロース画分)それぞれへもほぼ同程度に取り込み低下が認められた(Fig. 7)。これらの結果、ホウ素は細胞壁の合成系に関与しており、ホウ素欠除によって細胞壁の前駆物質が細胞壁に到達する前の段階で抑えられていることが明らかとなった。

## 結

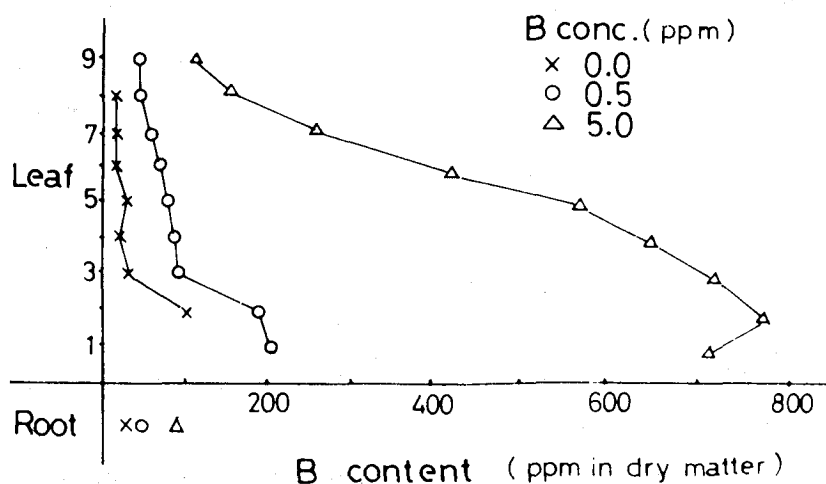
## 論

高等植物および液体振盪培養細胞を用いてホウ素の栄養生理作用解明のために細胞壁を中心として検討を行った。

その結果、ハツカ大根を用いホウ素は難移動性であることが示唆され、さらにハツカ大根、そして大豆、タバコ、水稻各培養細胞いずれでもホウ素が常に細胞壁中に存在し、これがホウ素欠除になると細胞中に含まれるホウ素の大部分が細胞壁に存在することがわかった。これらの結果、体内でのホウ素の分布はカルシウムのそれと極めて類似しており、微量ではあるがホウ素は細胞壁中で構造維持に必要な成分として作用していることが推察された。

形態観察によりホウ素欠除によって細胞壁に鋸歯状、さらには彎曲化構造が見られ細胞壁合成過程に関与しているゴルジ体、ゴルジ小胞、小胞体等の増加、さらには培養細胞を用いて細胞壁および細胞壁各構成成分の合成能に低下が認められた。ゴルジ体、ゴルジ小胞の内容物質が多糖類であることから、細胞内でのそれらとホウ素との結合が充分考えられる。以上の結果よりFig. 8にその模式図を示したが、ホウ素はゴルジ体、ゴルジ小胞、小胞体と結合することにより、それらに含まれた細胞壁の前駆物質を細胞壁中へ運搬する過程をスムーズにし、かつ細胞壁中に存在してその構造維持に関与していることが示唆された。

Fig. 1. Boron content of individual leaves and root of radish cultured for 18 days with different levels of boron in the solution



Tab. 1. Boron content in the cell wall of radish cultured for 28 days with different levels of boron in the solution (ppm in dry wall)

	B conc. (ppm)		
	0.0	0.5	3.0
Shoot	23.8 ( 0.87)*	48.8 ( 0.26)	47.8 ( 0.06)
Root	13.7 ( 0.48)	33.1 ( 0.35)	36.1 ( 0.33)

\*  $\frac{\text{Amount of B in the wall}}{\text{Total B in the tissue}}$

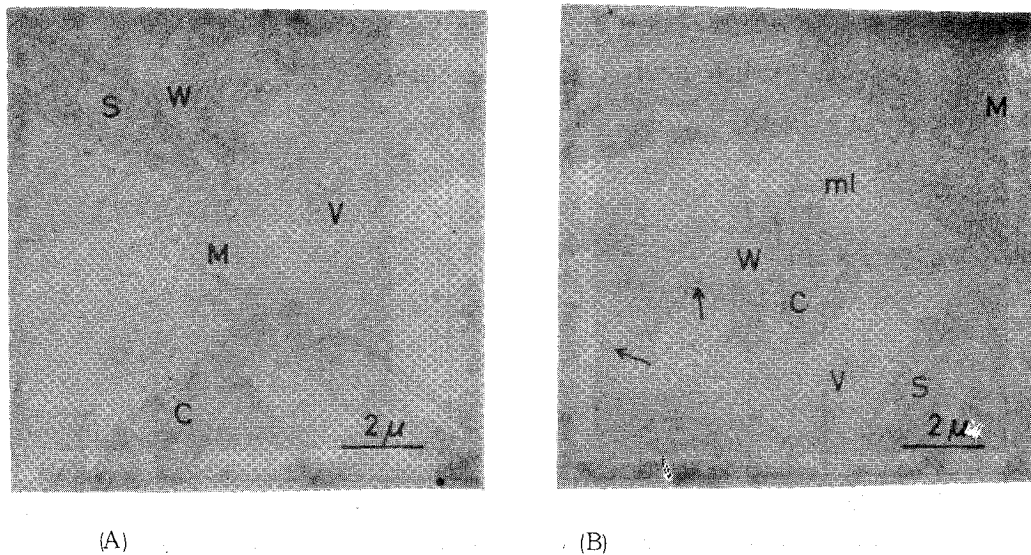


Fig. 2 Electron microscopy of spongy parenchyma cells of mature radish leaves grown with and without boron for 26 days. Arrows indicate the irregular structure of wall. (A) : 0.5ppm, (B) : 0.0ppm each boron concentration

V : Vacuole, C : chloroplast, W : wall,  
M : mitochondria, S : starch, ml : middle lamella

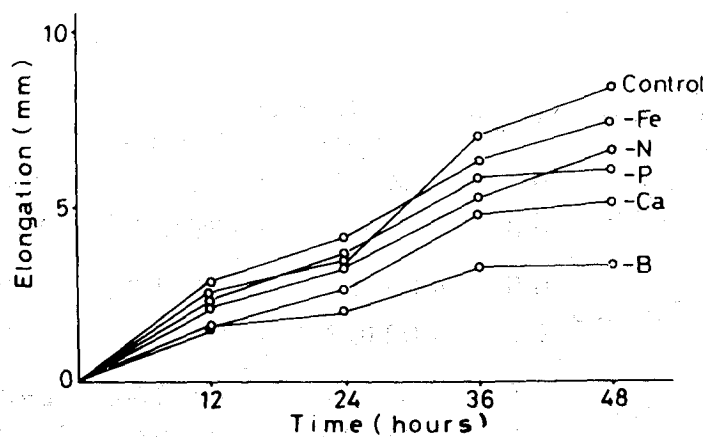
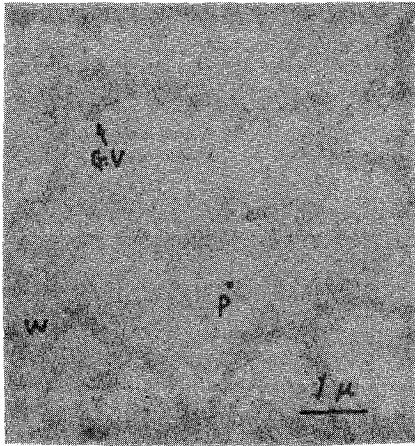
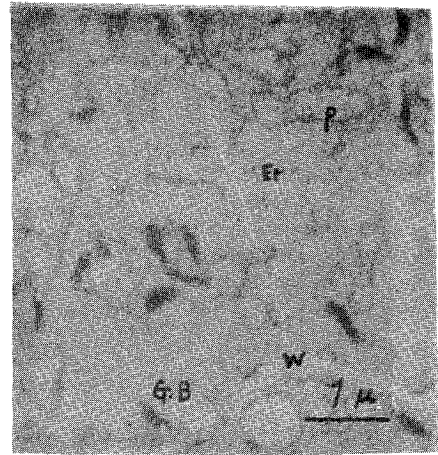


Fig. 3 Influence of the deficiency of boron, calcium and some other essential elements in nutrient solution on elongation of tomato root tips





(A)



(B)

Fig. 4 Electron microscopy of root tip cells at about 500  $\mu$ (A) and 1000  $\mu$ (B) from the apical initials of young mung bean grown without boron for 2 days

G,B : Golgi body, G,V : Golgi vacuole, W: wall, Er : Endoplasmic reticulum, M: mitochondria, P : proplastid,

Tab.2 Influence of boron deficiency in cultured medium on growth of various cultured cells

Cultures	Bppm	Growth		Water(%)
		gFW/Flask	gDW/Flask	
Soy bean	0.5	6.64 (1.00)	0.456 (1.00)	93.1
	0.0	4.85 (0.73)	0.289 (0.63)	94.6
Tobacco	0.5	4.69 (1.00)	0.244 (1.00)	94.8
	0.0	4.08 (0.87)	0.193 (0.80)	95.3
Rice	0.5	2.60 (1.00)	0.262 (1.00)	89.9
	0.0	2.11 (0.81)	0.235 (0.90)	86.5

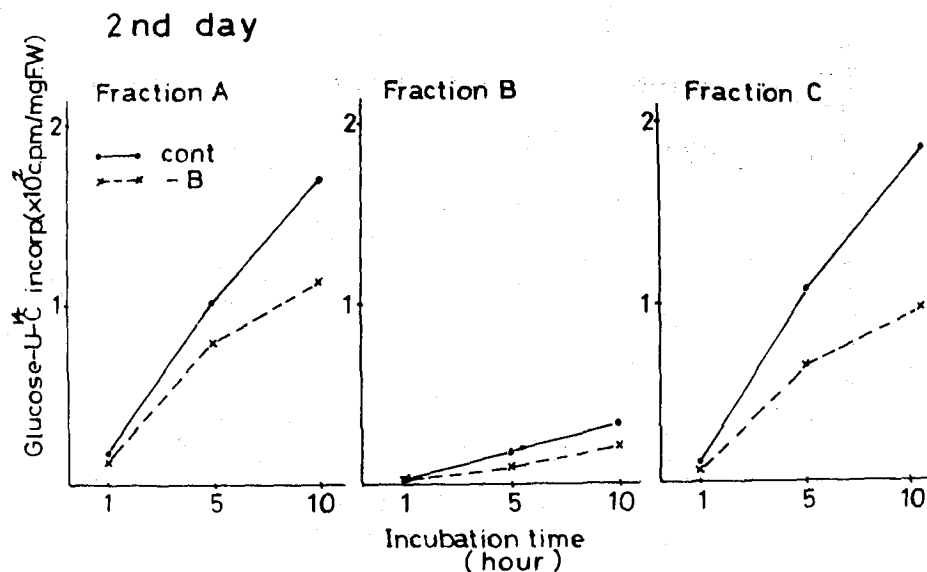


Fig. 5 Incorporation of glucose-U-<sup>14</sup>C into fractions of soybean cells cultured with and without boron for 2 days, Fraction A: 70% EtOH soluble, Fraction B: 70% EtOH insoluble, Fraction C: cell wall, Fresh cells (5 g), cultured with and without boron for 2 days, were fed with 2  $\mu$  ci / 0.4  $\mu$  mole glucose-U-<sup>14</sup>C in 25ml medium

Days hrs		% (FW base)		
2	1 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	5 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	10 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
4	1 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	5 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	10 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
7	1 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	5 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C
	10 cont.	A	B	C
	-B	A	B	C

Fig. 6 Ratio of <sup>14</sup>C from glucose-U-<sup>14</sup>C among fractions A, B, C to the total of soybean cells cultured with and without boron for 2, 4, 7 days. The cells, cultured with and without boron for 2, 4, 7 days previously, were incubated with glucose-U-<sup>14</sup>C as in Fig. 5.

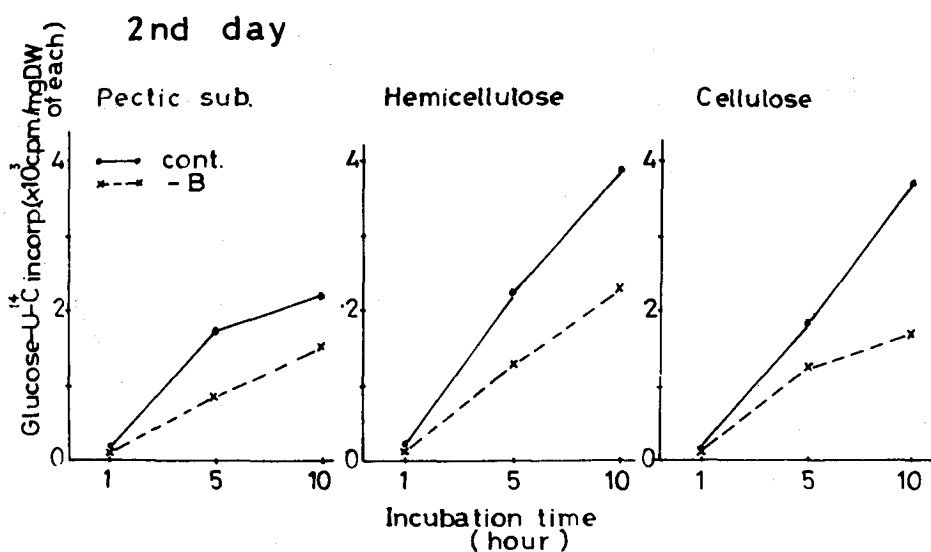


Fig. 7 Incorporation of glucose -U - <sup>14</sup>C into cell wall components (pectic substances, hemicellulose, cellulose) of soybean cells cultured with and without boron for 2 days.

Incubation : To 5 g cells, 2  $\mu$ ci / 0.4  $\mu$  mole glucose -U - <sup>14</sup>C was added. The cells, cultured with and without boron for 2 days previously, were incubated in 25 ml medium.

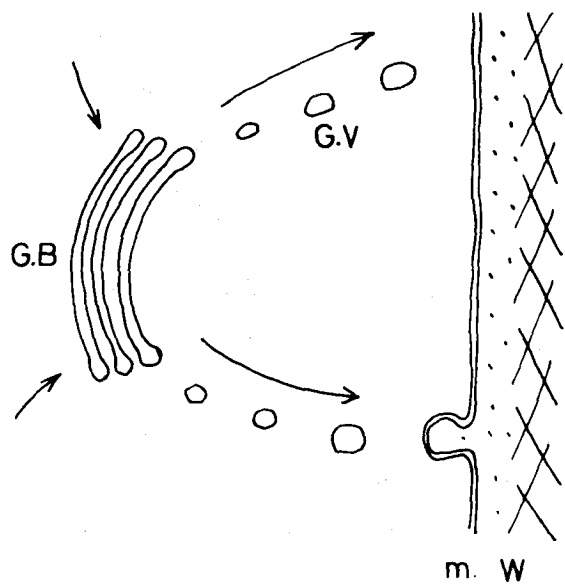


Fig. 8 Scheme of cell wall formation.

G.B : golgi body.      G.V : golgi vacuole

W : wall                      m : plasmalemma.

## 審 査 結 果 の 要 旨

ホウ素が高等植物の必須微量元素のひとつであることが立証されたのは比較的早く、多くの植物で種々のホウ素欠乏症状が認められている。ホウ素欠乏によって、植物体内の種々の代謝が乱れることが知られており、他方ホウ酸は polyhydroxyl 化合物と複合体を作りやすいことから、糖の転流さらには細胞壁物質合成に関係すると推論されている。しかしこのような複合体の分離同定はなされておらず、現在なおホウ素の生理作用の本質はほとんど解明されていない。

本論文は、個体植物のみならず液体振とう培養細胞を供試して、その生育とホウ素供給量との関係を明らかにするとともに、とくに細胞壁形成とホウ素との関係について形態観察をもあわせて追究したものである。

著者はまず、水耕栽培により、水稻よりもホウ素欠乏に敏感なハツカ大根について、欠乏症状の確認ののち葉位別分別によってホウ素は下位葉に集積しやすく難移動性であることを認めた。さらに、細胞壁中にホウ素は常に存在し、欠乏の場合には組織中のホウ素の大部分が細胞壁中に存在することが明らかになった。また、電子顕微鏡観察で、葉肉組織細胞壁の肥厚ならびに激しい鋸齒状構造を認めた。

次に、根端伸長におよぼす影響を調べ、ホウ素欠乏は根端細胞の分裂をより大きく抑制することを示した。緑豆根端細胞については、細胞壁の湾曲構造とともに、細胞壁形成に関与すると考えられるゴルジ小胞の数が欠乏組織では増加することを観察した。

最後に著者は、個体植物で認められたホウ素の栄養要求性と細胞壁との関係が培養細胞でも認められることを明かにした。大豆・タバコ・水稻の培養細胞いずれもホウ素欠乏により生育は低下するが、個体植物の場合と同様にそのていどは双子葉植物で大きい。大豆細胞の形態観察により、ハツカ大根葉肉細胞や緑豆根端細胞で認められたと同様な細胞壁の構造変化とゴルジ体の増加を認めた。さらにトレーサー実験によって、細胞壁成分の合成能がホウ素欠除培養細胞では低下することを確認し、ホウ素はゴルジ体、ゴルジ小胞と結合することによりそれらに含まれた細胞壁前駆物質を運搬する過程、さらには細胞壁の構造維持に関与すると考察した。

以上、本研究はホウ素の生理的役割に關してのいくつかの新知見を含み、植物栄養学および肥科学の分野に新しい基礎を与えるものと認められる。よって、審査員一同は、農学博士の学位を授与するに充分価すると判定した。